

Laboratorní metody pro autentifikaci potravin

Silvie Hradilová

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Silvie HRADLOVÁ**
Osobní číslo: **T09010**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Laboratorní metody pro autentifikaci potravin**

Zásady pro vypracování:

1. **Falšování potravin.**
2. **Způsoby falšování.**
3. **Klasické metody průkazu autenticity potravin.**
4. **Moderní metody pro odhalování falšování potravin.**
5. **Ochrana spotřebitele před falšováním potravin.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1]Mafrá,I.,Ferreira, I., M., P., L., V., O., Beatriz, M.,Oliveira, P., P., Food authentication by PCR-based methods, 2007.

[2]Dr. Nollet, L., Food authentication by HPLC, As published in LPI, 2004.

[3]Čížková, H., Metody a kritéria pro ověřování autenticity potravin a potravinářských surovin, KEY Publishing s. r. o, ISBN 978-80-7418-124-5, 2011.

Vedoucí bakalářské práce:

MVDr. Ivan Holko, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

16. ledna 2013

Termín odevzdání bakalářské práce:

2. května 2013

Ve Zlíně dne 4. února 2013


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Hradilová Silvie

Obor: Chemie a technologie potravin

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(1) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(2) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce je zaměřena na problematiku falšování potravin v historii a v dnešní době. Jsou zde uvedeny klasické metody průkazu falšování potravin např. mikroskopické metody nebo Kjeldahlova metoda. Z moderních metod průkazu těchto falšovaných potravin jsou zde uvedeny např. ELISA, polymerázová řetězová reakce či kapalinová chromatografie (HPLC). Práce se zabývá také legislativou a státními orgány odpovědnými za kontrolu potravin.

Klíčová slova: falšování potravin, ELISA, chromatografie HPLC, DNA.

ABSTRACT

This thesis is focused on food adulteration in history and today. There are listed classical methods for authentication of food such as microscopic method or Kjeldahl method. The modern methods of compliance of adulterated food are given there as ELISA, polymerase chain reaction and liquid chromatography (HPLC). Thesis deals also with legislation and state authorities responsible for food control.

Key words: adulteration of food, ELISA, HPLC chromatography, DNA.

Touto cestou bych chtěla poděkovat mému vedoucímu bakalářské práce MVDr. Ivanu Holkovi, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady pro vypracování této práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině za podporu, kterou mi věnovali při studiu.

Prohlašuji, že jsem na celé bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronické nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně, 3.5.2013

.....

Silvie Hradilová

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 FALŠOVÁNÍ POTRAVIN	11
1.1 FALŠOVÁNÍ V MINULOSTI	13
2 ZPŮSOBY FALŠOVÁNÍ	14
2.1 MASO A MASNÉ VÝROBKY	14
2.2 MLÉČNÉ VÝROBKY	17
2.3 VÝROBKY Z OVOCE A ZELENINY	18
2.3.1 <i>Výrobky z ovoce</i>	18
2.3.2 <i>Výrobky ze zeleniny</i>	21
2.4 FALŠOVÁNÍ KAKAA A ČOKOLÁDY	23
3 KLASICKÉ METODY PRŮKAZU AUTENTICITY POTRAVIN	27
3.1 MIKROSKOPICKÉ METODY	27
3.2 KJELDAHLOVA METODA	30
3.3 OBSAH VODY	31
4 MODERNÍ METODY PRO ODHALOVÁNÍ FALŠOVÁNÍ POTRAVIN	32
4.1 FYZIKÁLNĚ – CHEMICKÉ METODY	32
4.2 IMUNOCHEMICKÉ METODY	34
4.3 MOLEKULÁRNĚ BIOLOGICKÉ METODY	36
4.4 KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE (HPLC)	39
5 OCHRANA SPOTŘEBITELE PŘED FALŠOVÁNÍM POTRAVIN	41
ZÁVĚR	43
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	44
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	50
SEZNAM OBRÁZKŮ	51
SEZNAM TABULEK	52

ÚVOD

Falšováním potravin se nejedná jen o poškození ekonomických zájmů spotřebitele, ale může být ohroženo i zdraví spotřebitele, jelikož výrobek obsahuje složky, které by neměl jako například alergeny, lepek a pod. [1].

Již v historii byly zaznamenány falšované potraviny a těžké tresty za tyto činy. Např. ve středověku bylo falšování piva trestáno až smrtí. Také pražští pekaři, kteří byli takto nepoctiví, byli ve středověku máčeni v koších ve Vltavě. Způsob falšování a předražování potravin se rozvíjel především v době válek či při neúrodě [1].

Pod pojmem falšování výrobků rozumíme nedodržení deklarovaného složení, uvádění nesprávného původu a stáří u zboží, případně vydávání výrobků za jiný výrobek a to zcela záměrně. Dokud se budou vyrábět potraviny, neustále hrozí falšování těchto vyráběných potravin. Falšované potraviny se bez výjimky vyskytují ve všech komoditách potravinářských výrobků, nejčastěji se takto falšované potraviny vyskytují u drahých a velkoobjemových výrobků – tyto falšované potraviny vynesou nemalý zisk nepoctivým výrobcům [2].

V České republice dohlíží na kontrolu kvality a bezpečnosti několik kontrolních organizací, přičemž každá z organizací má jinou pravomoc.

Definice falšování potravin dle Státní zemědělské a potravinářské inspekce SZPI:

- záměna dražší složky levnější
- výrobek nemající uvedeno složení
- nesprávné označování výrobku (neodpovídající složení, původ, apod.)
- „nastavování“ potravin (vodou, škrobem, apod.)

Z důvodu nárůstu kauz falšovaných potravin se zvětšuje i spektrum metod pro odhalování falšování. Tyto detekce jsou založeny na fyzikálních, chemických a biochemických, mikroskopických a molekulárních metodách. Složitost odhalení falšování stoupá úměrně s mírou zpracování výchozí suroviny na finální výrobek [2].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 Falšování potravin

Tento název vznikl z latinského výrazu *falsum*, což znamená padělek, podvrh či napodobenina. Potravinu se falšují např. z těchto důvodů:

- náhrada nákladné suroviny levnější (maso hovězí – maso koňské)
- nedodržení deklarovaného složení (obsah sušiny, tuku, vody)
- používání nedeklarované technologie, nedodržení technologie (panenský olivový olej, vodní aktivita masných výrobků)
- maskování nedodržení receptury
- nepravdivé uvádění země původu a stáří zboží
- záměrné vydávání výrobku za jiný výrobek

Jinými slovy falšování potravin je záměrné zhoršování kvality potravin za účelem zvýšení zisku výrobce. Při falšování potravin náhradou dražší suroviny za levnější nedochází zákonitě v potravině ke zdravotní závadnosti. Avšak pokud je dražší složka v potravě nahrazená alergenní složkou bez její deklarace na obalu, tato může vážně ohrožovat na životě (např. nedeklarovaná přítomnost mléčné bílkoviny v sójovém nápoji, přítomnost arašídů v mražených krémech nebo v čokoládě). Takto falšované potraviny spotřebitel bohužel nemá možnost odhalit předem, protože většinou nedochází k pozorovatelným změnám a odchylkám ve vzhledu a chuti.

Dozor nad takovými potravinami udržuje několik kontrolních orgánů jako je Státní zemědělská a potravinářská inspekce (SZPI), Česká obchodní inspekce (ČOI) a Státní veterinární správa (SVS) [3].

Právní předpisy na pojmy „falšovaná potravina“ nebo „falšování“ pamatují, ale Zákon o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb., či nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 178/2002 přímo tyto pojmy nedefinují, avšak přísně zakazují uvádění do oběhu a následný prodej těchto falšovaných potravin a potravin klamavě označených, případně takové potraviny, které uvádějí zákazníky v omyl [4].

Příklady potravinových podvodů spojených s ohrožením zdraví:

- Nejaktuálnější kauzou v ČR je falšování alkoholických nápojů – lihovin přidavkem metanolu, které bylo zaznamenáno v letech 2012 – 2013. Tato kauza měla fatální následky s desítkami úmrtí anebo vážného poškození zdraví.
- Melamin v mléčných produktech z Číny – v roce 2008 se zjistilo, že čínští farmáři i farmářské firmy přidávali tento melamin do mléka, které bylo ředěno vodou, tím se kryl nedostatek bílkovin. Tento melamin byl přidáván do sušeného mléka, které bylo určeno pro výživu kojenců. Tahle náhražka měla smrtící následky [5].
- Doplňky stravy s farmakologicky účinnými látkami – sildenafil, tadalafil či anabolické steroidy byly obsaženy v České republice v doplňcích určených pro sportovce a v doplňcích na podporu potence. Užívání těchto látek však smí být jen na lékařský předpis z důvodů vedlejších nežádoucích účinků [5].
- Manipulace s datem použitelnosti potravin – bylo prokázáno u masných a mléčných potravin. Nikdy však nebylo prokázáno, že se jedná o trestný čin, i když se mnohé kauzy dostaly až před soud. Někteří maloobchodníci jsou dodnes kontrolováni inspektory, zda nepřelepují datum použitelnosti či jej nepřepisují [5].

Příklady potravinových podvodů, které neohrožují zdraví spotřebitele:

- Náhrada hovězího masa koňským v různých typech masných výrobků v Evropě v roce 2013.
- Doslazované medy – jelikož se jedná o výhradně přírodní potravinu, není tudíž dovolen žádný přídavek aditiv ani umělé přidávání cukru, které je odhaleno moderními analytickými metodami.
- Ředěné burčáky – kvalitu burčáku definuje zákon o vinařství. I když jsou prodávané burčáky pravidelně kontrolovány, přesto se nachází burčáky ředěné vodou [5].

1.1 Falšování v minulosti

Nové metody kontrol potravin vycházejí ze změn v legislativě, cenách a dostupnosti jednotlivých produktů uváděných na trh. Na počátku 19. století popisují situaci pánové Accum a Hassal, kdy tehdejší falšování potravin vážně ohrožovalo zdraví spotřebitelů [6].

Z prvních odhalených případů falšování v 90. letech stojí za zmínku zjištění suříku (oxidu olovnato – olovičitého) nebo rozemleté cihly v mleté paprice, falšování skotské whisky Ballantine´s nebo také záměrný, ale nedeklarovaný přídavek syrovátkové bílkoviny do sójového nápoje, čímž výrobek dostane lepší sensorické vlastnosti [4].

Jednou z mnoha falšovaných potravin je kauza s řepným olejem ze Španělska, při které onemocněly tisíce lidí a stovky jich zemřely. Jednalo se o řepkový olej denaturovaný anilinovou žlutí, který byl určený ke spálení v podobě paliva, jenže jistá firma jej v roce 1981 destilací zbavovala pigmentu. Takto upravený olej byl poté prodáván ke kulinárnímu použití [6].

2 Způsoby falšování

Úroveň falšování úzce souvisí s vývojem vlastní úrovně výrobní technologie a kvalitou daného výrobku. Falšování potravin je negativní jev, přičemž tyto důsledky mají vliv na spotřebitele finančním okrádáním, ale také psychickou morální devastací [7].

Není pravdou, že veškeré potraviny jsou přesně takové, jak uvádí předpisy. Tohle tvrzení mohou dokázat zkušební odborníci, kteří vědí, že se potraviny různě falšují a to se zneužitím nejnovějších vědeckých poznatků.

Kuriozitou je např. koření, zde se našla rozemletá zemina, či paprika, ve které byla rozdrcená cihla [8].

2.1 Maso a masné výrobky

U masných výrobků dochází k záměně určitého podílu masa v masných výrobcích za jiné suroviny (tuk, kůže, mouka, voda, sójová bílkovina). Některé vady masa se skrývají pomocí barviv, koření a konzervačních látek. Nejčastějším falšováním je výměna vykostěného masa za maso separované (strojně oddelené).

Falšování bylo široce rozšířeno v maloobchodních trzích. Identifikace druhu a původu vzorku masa je pro spotřebitele důležité z několika důvodů: ekonomické ztráty, zdravotní důvody jednotlivých spotřebitelů, což jsou např. alergie, a v neposlední řadě také náboženské vyznání – zákaz konzumovat některé maso [9].

Jedná se o nahrazování komponentů v masných výrobcích levnějšími náhražkami. Při falšování masa se musí dávat pozor, aby nebylo nahrazováno jinými druhy masa především drůbežím separátem. Nejčastějším problémem je také nesprávné uvádění složení výrobku na etiketách.

Nejaktuálnější kauzou falšování masa je přídavek koňského masa do různých výrobků v celé EU. V České republice byl odhalen pouze jeden případ tohoto falšování a to konkrétně ve výrobku Lasagne. Ostatní případy se týkaly jiných druhů masa jako například případ, kdy krutí salám obsahoval vepřové maso, které nebylo uvedeno na etiketě [10].

Při kontrole produktů „kuřecí prsa“ a „kuřecí prsní řízky“ odhalila Státní zemědělská a potravinářská inspekce pomocí laboratorní analýzy přítomnost přidané vody 7,9% až 15,5% hmotnosti výrobku. Byl zde zjištěn i nepřiměřeně vysoký podíl chloridů. I tohle je

klamání spotřebitele, jelikož na obale je uvedeno, že se jedná o čistou kuřecí svalovinu. Prodávání těchto potravin nastavuje nerovné podmínky, jelikož si mohou dovolit snížit cenu a to poškozuje poctivé výrobce, kteří si nemohou dovolit snížit cenu nefalšovaných potravin. Pokud je přidána do tkáně masných výrobků voda, aniž by byla uvedena na obale, hrubě se tímto porušuje potravinové právo [11].

Státní veterinární správa kontrolovala určité masné výrobky a zjistila nedostatky v jejich složení. Tito veterinární inspektoři ve 4 krajích – Jihočeském, Jihomoravském, Vysočina a v Praze – laboratorně analyzovali asi 70 těchto vzorků. Zaměřili se především na vysoký obsah kuřecího masa, nepovolený obsah separátního masa, či nadměrný obsah rostlinných bílkovin, než je dovoleno dle norem. V určitých takto testovaných vzorcích byly tyto nedostatky prokázány.

Nedeklarovaný obsah drůbežního masa odhalily laboratorní metody ve vzorku z dovozového gothajského salámu, ve spišských párcích, nebo také u šunkového salámu, u dietního salámu Junior a ve špekáčcích, které pocházely z jedné domácí firmy. Testy na odhalení přídavků separovaného masa odhalily, že jej obsahuje také dovozový gothajský salám, lahůdkové párky a také dietní salám Junior nebo špekáčky [12].

Při kontrole zaměřující se na zjištění obsahu čisté svaloviny bylo zjištěno, že turistický salám, salám Herkules, Vysočina nebo také dovozové šunky obsahovaly nedeklarovaný podíl libového masa. Poté, co se pracovníci zaměřili na obsah rostlinného oleje, zjistili, že turistický salám a Vysočina jej obsahují víc, než mají [12].

Nejaktuálnější kauzou byl přídavek koňského masa do masných polotovarů. Analýza dokázala náhradu hovězího masa masem koňským a to v rozsahu nejméně 60%. Tyto výsledky, které získala z provedené analýzy, aktualizovala Státní veterinární správa dne 7. 3. 2013. Jednalo se o tyto vzorky:

- těstoviny plněné masem s rajskou omáčkou – mrazené, balené po 400g, původem z Lucemburska s datem minimální trvanlivosti do 18. 10. 2013 a 24. 2. 2014.

Tyto a několik desítek jiných vzorků společně odebrala Státní zemědělská a potravinářská inspekce 11. 2. 2013 v provozovně Tesco Stores ČR v Plzni [13].

Tabulka 1: Hodnocené vzorky kuřecích prsních řízků falšovaných vodou [11]

Kontrolovaná osoba	Provozovna	Název výrobku	Výrobce	Výsledek analýzy
GLOBUS ČR, k.s.	České Vrbné 2327, České Budějovice	Kuřecí prsa	FRIGOPRIMA spol. s r.o., Náměstí 25, 692 01 Mikulov CZ 80 ES	Nevyhovující: Přidaná voda: 7,9% Zvýšený obsah chloridů
AHOLD Czech Republic a.s.	Jáchymova 838/111, Jindřichův Hradec	Kuřecí prsní řízky	FRIGOPRIMA spol. s r.o., Náměstí 25, 692 01 Mikulov CZ 80 ES	Nevyhovující: Přidaná voda: 13,5% Zvýšený obsah chloridů
Tesco Stores ČR a.s.	Brněnská 2982/74, Jihlava	Kuřecí prsa	FRIGOPRIMA spol. s r.o., Náměstí 25, 692 01 Mikulov CZ 80 ES	Nevyhovující: Přidaná voda: 15,0% Zvýšený obsah chloridů
BILLA, spol. s r.o.	Hornoměstská, Velké Meziříčí	Kuřecí prsní řízky	FRIGOPRIMA spol. s r.o., Náměstí 25, 692 01 Mikulov CZ 80 ES	Nevyhovující: Přidaná voda 12,4% Zvýšený obsah chloridů
NORMA k.s.	Antonína Barcala 1414, České Budějovice	Kuřecí prsní řízky 500g	Prodávající: Vodňanská drůbež, a.s., Radomilická 886, 389 01 Vodňany CZ 922 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
MAKRO Cash & Carry ČR s.r.o.	Hrdějovice 396, České Budějovice	Kuřecí prsní řízky 10 x 150g	Prodává: Vodňanská drůbež, a.s., Radomilická 886, 389 01 Vodňany CZ 922 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
Jednota, spotřební družstvo v Jindřichově Hradci	Staré Město pod Landštejnem, č.p. 57	Kuřecí prsní řízek	Ing. Eduard Beneš, Průmyslová 1038, Kralupy nad Vltavou CZ431ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
SPAR Česká obchodní společnost s.r.o.	Chýnovská 3049, Tábor	Kuřecí prsní řízek	VIDORA, s.r.o., Na Náměstí 18, Všetaty CZ 3408 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
SPAR Česká obchodní společnost s.r.o.	Chýnovská 3049, Tábor	Kuřecí prsní řízek	VIDORA, s.r.o., Na Náměstí 18, Všetaty CZ 3408 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
<u>Penny Market</u>	<u>Hvězdná, Jindřich</u>	<u>Kuřecí prsní</u>	<u>JAROŠ GROUP s.r.o.,</u>	<u>Vyhovující z hlediska</u>

Kontrolovaná osoba	Provozovna	Název výrobku	Výrobce	Výsledek analýzy
s.r.o.	chův Hradec	řízek	Dubí 988, Kladno CZ14414ES	sledovaných parametrů
Jednota, obchodní družstvo Tábor	Velkoobchodní sklad, Na Pískách, Soběslav	Kuřecí prsní řízky 500g	Prodává: Vodňanská drůbež, a.s., Radomilická 886, 389 01 Vodňany CZ 4502 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
Kaufland Česká republika v.o.s.	Katovická 1306, Strakonice	Kuřecí prsní řízek 500g	Rabbit Trhový Štěpánov, a.s., Trhový Štěpánov 302 CZ 1070 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
Jednota, spotřební družstvo České Budějovice	Labská 1079, České Budějovice	Kuřecí prsní řízky 500g	Prodávající: Vodňanská drůbež, a.s., Radomilická 886, 389 01 Vodňany CZ 4502 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
Jednota, družstvo spotřebitelů v Kaplici	Náměstí 82, Benešov nad Černou	Kuřecí prsní řízky 500g	Prodávající: Vodňanská drůbež, a.s., Radomilická 886, 389 01 Vodňany CZ 4502 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů
Kaufland Česká republika v.o.s.	Na Sádkách 1444, České Budějovice	Kuřecí prsní řízek 500g	Rabbit Trhový Štěpánov, a.s., Trhový Štěpánov 302 CZ 1070 ES	Vyhovující z hlediska sledovaných parametrů

2.2 Mléčné výrobky

Mléčné výrobky jsou vyráběny z mléka a veškerý nedeklarovaný přídavek jiných než mléčných bílkovin je zakázán. Z důvodu, že se konzumace sóji považuje za prospěšnou a to jak z výživového, tak i ze zdravotního hlediska, bylo vyvinuto mnoho dalších nových výrobků, do kterých je tato sójová bílkovina přidávána. Takto vytvořené mléčné výrobky jsou mnohem levnější, jelikož sójová bílkovina je méně nákladná oproti mléčné bílkovině. Bohužel sója je řazena mezi alergenní přísady, proto musí být její přídavek ve výrobku dle směrnice Evropské unie č. 2000/13/ES o označení potravin čitelně uveden na dané etiketě výrobku.

Stanovení sójových bílkovin v mléčných výrobcích je dosti složité především tehdy, jsou-li rostlinné bílkoviny použity jen v malém množství [14].

Perfuzní chromatografie byla použita ve Španělsku pro stanovení přídavku sójových bílkovin do určitých mléčných výrobků. Při této laboratorní metodě dochází ke smíchání vzorku a vhodného rozpouštědla a k odstředování, metodou se dokáží separovat sójové bílkoviny od mléčných za méně než 4 minuty. Tato metoda byla úspěšně použita při stanovování sójových bílkovin v sýru, jogurtu a také v kojenecké výživě [14].

Při odstředění mléčného tuku dochází k odstranění důležitých vitamínů, minerálů a vápníku, jelikož jsou všechny tyto látky navázány v mléčném tuku, po tomto odstranění zůstane jen „bílá voda“ a její energetická hodnota je již minimální [15].

V 80. letech 20. století bylo mléko tak kvalitní, že bylo možno z kupovaného mléka udělat tvaroh a následně z tohoto tvarohu sýr. V této době plnotučné mléko (3,2% tuku v sušině) obsahovalo i smetanu [15].

Situace se zhoršila především u mléčných výrobků po zrušení závazných státních norem, k čemuž došlo počátkem 90. let. U jogurtů poklesl obsah cenné sušiny z přibližně 16% na 8%. V dnešní době se do bílých jogurtů přidává škrob, přičemž tyto jogurty by měly obsahovat pouze mléko a živé jogurtové kultury. Jak již z názvu vyplývá, do ovocných jogurtů se přidává ovocná složka, avšak u meruňkového jogurtu je v meruňkové přísadě obsažen cukr, kukuřičný škrob, guma guaran, pektin, ale také i paprikový extrakt a mnoho dalších přídatných látek [15].

2.3 Výrobky z ovoce a zeleniny

2.3.1 Výrobky z ovoce

Dle vyhlášky 157/2003 Sb. Ministerstva zemědělství se zpracovaným ovocem rozumí:

- a) zpracovaným ovocem – potravina, jejíž charakteristickou složkou tvoří ovoce a která byla upravena konzervováním, s výjimkou ovocného alkoholického a nealkoholického nápoje a zmrazeného nápoje,
- b) kompotem – ovoce s nálevem nebo bez nálevu, v neprodyšně uzavřeném obalu, konzervované sterilací,
- c) džemem výběrovým (Extra) – potravina vyrobená ze směsi přírodních sladidel, vody a nezahuštěné pulpy jednoho nebo více druhů ovoce, přivedené do vhodné rosovitě konzistence,

- d) džemem – potravina vyrobená ze směsi přírodních sladidel, vody, pulpy a dřene, nebo přírodních sladidel, vody a dřene, jednoho nebo více druhů ovoce, přivedené do vhodné rosolovité konzistence,
- e) marmeládou – potravina vyrobená ze směsi přírodních sladidel, vody a jedné nebo více surovin získaných z citrusových plodů, přivedené do vhodné rosolovité konzistence, přičemž za suroviny získané z citrusových plodů se považují pulpy, dřene, šťávy, vodné extrakty a kůry,
- f) povidly – potravina vyrobená z jednoho nebo více druhů ovoce (jablka, hrušky, švestky), s přídavkem přírodních sladidel nebo bez přídavku, přivedená do polotuhé až tuhé konzistence s jemnými hruškovými částicemi dužiny ovoce,
- g) ovocným protlakem – potravina řídké až kašovitě konzistence vyrobená z jedlé části ovoce (bez kůry, slupky, jader, pecek, jádřinců) propasírováním nebo obdobným procesem, s případným přidáním přírodních sladidel, konzervovaná snížením obsahu vody, sterilací nebo přidáním konzervačního prostředku anebo kombinací uvedených způsobů [16].

Požadavky na jakost citrusových plodů:

- I. jakost – plody patřící do této skupiny musí mít typické vlastnosti odrůdy nebo tržního druhu:
 - řadí se zde lehké vady slupky vzniklé při růstu plodu (např. stříbrné šupinky, poškození škůdci),
 - lehká mechanická poškození vzniklá krupobitím, odřením nebo manipulací, která se zhojí,
 - částečné lehké uvolňování slupky.
- II. jakost – pokud si citrusové plody zachovají své základní vlastnosti, které se týkají jakosti, uchovatelnosti a obchodním úpravám:
 - vady tvaru,
 - vady zbarvení, včetně popálenin, které jsou způsobeny slunečním zářením,
 - rozvinuté vady slupky, které však nepostihují dužinu [17].

Hlavní způsoby falšování ovocných výrobků:

- přidavkem cukru dochází ke snížení obsahu ovocného podílu,
- levnější druhy ovoce nahrazují dražší druhy (např. částečná náhrada malin, borůvek, ostružin jablky),
- u citrusových šťáv dochází k přidavku šťávy získané z extrakce výlisků ke šťávě z prvního lisování,
- vydávání získané šťávy rekonstitucí koncentrátu za šťávu, která byla získána lisováním z ovoce [18].

Mezi nejtradičnější ovocné výrobky, které jsou nejčastěji falšované, patří ovocné šťávy. Úplně první skupinou, která byla v roce 1996 detailně podrobena analýze na zjištění falšování, byl pomerančový džus. Postupem času se laboratorní metody zdokonalily a v roce 2011 byl při analýze 100% pomerančové šťávy zjištěn tento obsah jen 65%, výrobek byl vyroben za použití řeckého koncentrátu, který byl podle doloženého certifikátu u suroviny určen jen pro výrobu nápojů či nektarů [4].

Další nejčastěji falšované ovocné výrobky jsou výrobky na bázi džusů, džemů, želé a dření se snahou nahradit dražší ovocnou složku levnější. Mimo fenolické sloučeniny jsou i antokyany často považovány za ukazatele pravosti potravin, jelikož jejich specifické vzorce umožňují klasifikaci různých druhů ovoce a odhalují příměsi levnějšího ovoce nebo plody se stabilnější barvou. Příkladem jsou jahody, zde byl zaznamenán přídavek barviv, který byl odhalen zvýšenou citlivostí pigmentů. Hlavními antokyany jahod byly identifikovány pelargonin 3-glukosid a cyanidin 3-glukosid [19].

Vývoj Fourierovy transformace infračervené spektroskopie (FTIR) pracující v oblasti infračerveného záření byly odhaleny nové perspektivy v oblasti kontroly kvality v potravinářském průmyslu, protože umožňuje rychlý screening a kvalifikaci složek. Tato FTIR spektroskopie je vhodná například pro stanovení obsahu ovocných marmelád vyrobených z malin, meruněk a ostružin [19].

V neposlední řadě jsou falšované také ovocné pomazánky, mezi které se řadí např. džemy a marmelády. Při stanovení ovocného podílu jsou analytické metody pro detekci falšování obdobné jako u ovocných šťáv nebo u nektarů stanovením chemických prvků, organických kyselin (např. citronové, isocitronové, jablečné a vinné), také stanovením formolového čísla, refraktometrické sušiny, cukrů, metody jsou zaměřené i na stanovení

markerů, které jsou charakteristické pro každé druhy ovoce, např. při průkazu jablek se jedná o floridin, u borůvek to je kyselina chinová. Od roku 2003 bylo již testováno na 120 různých výrobců džemů (některé se před rokem 2004 označovaly jako marmelády), bohužel 44 testovaných výrobků bylo nevyhovující, jelikož byl odhalen snížený podíl ovoce [4].

U zpracovávaného ovoce a zeleniny byla prokázána přítomnost cizorodých látek, zejména nepovolených barviv a to především v sušeném ovoci, méně v marmeládách a kompotech. Zjištěny byly také nepovolené konzervační látky nebo naopak překročení limitů u povolených konzervačních látek v sušeném ovoci a zelenině, džemech a kečupech. U plechovkových kompotů byl zjištěn nadlimitní obsah olova a cínu. U sušené zeleniny byla také zjištěna nadlimitní přítomnost dusičnanů a přítomnost pesticidů v kojenecké výživě [20].

2.3.2 *Výrobky ze zeleniny*

Dle vyhlášky 157/2003 Sb. Ministerstva zemědělství se zpracovanou zeleninou rozumí:

- a) zeleninou – celá, čerstvá, zdravá zelenina beze známek plísně či hniloby, očištěná, zbavená nežádoucích cizích příměsí,
- b) zpracovanou zeleninou – výrobky, u kterých charakteristickou složku tvoří zelenina, upravené konzervováním, výjimku tvoří zeleninové nealkoholické nápoje, dressinky, studené omáčky a hluboce mrazené zeleniny,
- c) sterilovanou zeleninou – výrobek s nálevem v hermeticky uzavřeném obale, konzervovaný pomocí sterilace,
- d) zeleninovým protlakem – potravinou řídké až kašovitě konzistence s případnými jemnými nebo hrubšími kousky požitých surovin, vyrobená z jednotlivých částí zeleniny propasírované nebo obdobným procesem zpracované, konzervována sníženým obsahem vody, přidáním soli, sterilací či přidávkem konzervačního prostředku,
- e) sušenou zeleninou – potravinou konzervovanou sušením bez použití přírodních sladidel nebo sladidel [16].

Technologické požadavky na zpracovanou zeleninu:

1. Sušená, proslazená či kandovaná zelenina, která je nebalená, se skladuje při teplotě max. 20°C a relativní vlhkosti vzduchu max. 70%, u sušené zeleniny pak nejvýše 65%.
2. Sušená, proslazená či kandovaná zelenina se musí skladovat a přepravovat odděle- ně od látek s výraznými vůněmi a pachy, výjimku tvoří sušené a proslazené či kan- dované balení zeleniny v obalu určeném pro spotřebitele.
3. Upravená chlazená čerstvá zelenina se uvádí do oběhu při teplotách od 0°C do 5°C [16].

Fyzikální a chemické požadavky na jakost:

1. Konzervované zeleninové výrobky obecně:
 - a) pokud není uvedeno jinak, obsah znečišťujících minerálních látek, které jsou přítomny v půdě, všeobecně činí max. 0,08%,
 - b) po zpopelnění vzorku obsah popela činí nejvýše 1,5%.
2. Sterilované zeleninové výrobky:
 - a) kyselost výrobku, která je definovaná jako obsah kyseliny octové ve sterilo- vaných zeleninových výrobcích, je max. 2%,
 - b) obsah soli ve sterilovaném hrášku je max. 1,5%.
3. Zeleninové protlaky:
 - a) sterilované, či chemicky konzervované obsahují min. 7% sušiny, stanovené refraktometricky,
 - b) konzervované přidavkem soli obsahují nejméně 32% sušiny, stanovené refraktometricky, obsah soli nesmí překročit 28%, u česnekového protlaku 55%,
 - c) rajčatové protlaky zředěné vodou na roztok o koncentraci 8% hmotnostních nesmí obsahovat více než 60 mg/kg nerozpustných minerálních nečistot,
 - d) u kečupů obsahujících nejméně 12% refraktometrické sušiny musí nejméně 7% činit refraktometrická sušina vnesená rajčatovou surovinou [16].

V roce 2002 byly zahájeny kontroly ověřování pravosti kečupů. Výpočet obsahu použitých rajčat nebo hodnota refraktometrické sušiny vnesenou rajčatovou surovinou je rozhodujícím parametrem jakosti kečupů, jejíž minimální požadované množství 7% je uvedeno ve vyhlášce č. 157/2003 Sb., tento výpočet je podložen stanovením formolového čísla, organických kyselin, pyroglutamové kyseliny a minerálních látek (např. fosfor, draslík, hořčík). Více než 70 vzorků rajčatového protlaku bylo v roce 2002 podrobena analýze zaměřené na stanovení obsahu rajčat a rajčatové sušiny. Analýza prokázala 20 nevyhovujících vzorků z pohledu falšování. U kečupů dovezených z Polska byly zjištěny nejnižší hodnoty refraktometrické sušiny 2,8% a 3,1%. Bohužel i u kečupů vyrobených v České republice byly zjištěny podprůměrné hodnoty refraktometrické sušiny a to 3,8% a 5,5%. Aby si konzument dokázal představit, o jaký úbytek rajčat se jedná, zde je vysvětlení: snížení 1% rajčatové sušiny odpovídá odebrání zhruba 20 g rajčat na 100 g kečupu. Jestliže kečup obsahuje 2,8% refraktometrické sušiny výrobce použil namísto 140 g rajčat na 100 g kečupu pouze necelých 60 g [4].

2.4 Falšování kakaa a čokolády

Hlavním důvodem, proč se falšují čokolády, je ten, že náklady na kakaový prášek jsou velmi vysoké, od toho se odvíjí i vysoká cena výrobků využívající kakao jako hlavní surovinu. Nejčastěji se jedná o snížení tukuprosté kakaové sušiny = obsah kakaových částí bez veškerého tuku a vlhkosti. Obsah tukuprosté kakaové sušiny, kterou musí obsahovat čokolády na českém ale i evropském trhu, jsou uvedeny jednak ve vyhlášce 76/2003 Sb., jednak v European Chocolate Directive 2000/36/EC.

Dle vyhlášky 76/2003 Sb. Ministerstva zemědělství se rozumí pod pojmy:

- a) kakaovým práškem neboli kakaem – potravina získaná, která se získává z pražených kakaových bobů zbavených slupek, upravených na prášek, který obsahuje nejméně 20% kakaového másla v sušině a nejvíce 9% vody,
- b) čokoládou v prášku – potravina vyrábějící se ze směsi kakaa a cukrů obsahující nejméně 32% kakaa,
- c) kakaovými boby – sušená semena kakaovníku, která jsou pražená,
- d) kakaovým máslem – tuk, který se získává z kakaových bobů nebo jejich částí odpovídajících požadavkům,

- e) čokoládou – potravina vyrábějící se z kakaových součástí, přírodních sladidel, sladidel, přídatných a aromatických látek [16].

Tabulka 2: Fyzikální a chemické požadavky na kvalitu čokolád (%) [4]

Druh	Obsah kakaového másla	Obsah tukuprosté kakaové sušiny	Obsah celkové kakaové sušiny	Obsah mléčného tuku	Obsah celkového tuku ^{*)}	Obsah mléčné sušiny	Obsah mouky nebo škrobu
Hořká čokoláda	18	14	35	-	-	-	-
Mléčná čokoláda	-	2,5	25	3,5	25	14	-
Family mléčná čokoláda	-	2,5	20	5	25	20	-
Bílá čokoláda	20	-	-	3,5	-	14	-
Chocolate a la taza	18	14	35	-	-	-	nejvýše 8
Chocolate familiar a la taza	18	12	30	-	-	-	nejvýše 18

*) obsah celkového tuku – vypočte se sečtením kakaového másla a mléčného tuku

Tyto hodnoty z tabulky nejsou platné pro výrobky, které mají v názvu uvedeno „extra“, „vysoká jakost“ (př. extra hořká čokoláda nesmí obsahovat méně jak 43% celkové kakaové sušiny a kakaové máslo musí být zastoupeno nejméně z 26%) [4].

Infračervená spektroskopie nabízí řadu významných výhod v analýze autenticity oproti tradičním chemickým metodám. Jedná se o fyzickou destruktivní a neinvazivní metodu, nevyžadující žádnou, případně jen minimální, přípravu vzorku k detekci. Může se zde provést několik stanovení najednou. Měří se zde fyzikální a chemické vlastnosti [21].

Podle několika prací byla úspěšně použita metoda nízkofrekvenční infračervené spektroskopie NIR při analýze parametrů čokolády a surovin pro její výrobu. Jedná se o rychlou nedestruktivní metodu, která se osvědčila především v analýze obsahu tuku, sacharózy, proteinů, karbohydrátů a vlhkosti [21].

NIR je rychlá a nedestruktivní metoda pro stanovení charakteristických vlastností výrobků z čokolád na základě jejich difúzního odrazu podobnému infračervené spektro-

skopie Fourierovou transformací a umělých neuronových sítí. Tato metoda je užitečná alternativa k časově náročným chemickým metodám [21].

Touto metodou bylo hodnoceno 36 různých vzorků čokolád zakoupených ve španělském trhu a byly analyzovány pro stanovení hlavních nutričních parametrů – sacharidy, tuky, bílkoviny, energetická hodnota a obsah kakaa. Každý vzorek byl měřen třikrát, z těchto hodnot byl poté vypočten průměr. Při provádění analýzy byla v místnosti udržována teplota $26 \pm 1^\circ\text{C}$, která byla hlídána rtuťovým teploměrem. Vzorky byly přímo vloženy do spektrofotometru. Spektrofotometr se musel po každém změření vzorku očistit měkkým papírkem navlhčeným acetonem [22].

V práci Morose a kol. (2007) bylo analyzováno 36 vzorků čokolád. U 3 vzorků byl zjištěn obsah kakaa 50 – 70%. U 7 analyzovaných vzorků byl obsah krému asi 35%. Nejnižší podíl kakaa obsahovaly 3 analyzované vzorky. Zatím co vyšší obsah kakaa byl stanoven u 13 vzorků. Rozdílný obsahu tuku byl zjištěn u 10 testovaných čokolád. Touto metodou byl zjištěn u 2 testovaných vzorků čokolád obsah maltitolu – nízkokalorické sladidlo což může mít za následek snížení energetické hodnoty těchto dvou vzorků [22].

V dnešní době jsou na trhu dostupné různé směsi kakaa. Příkladem je směs typu Granko, ale také směsi kakaa s cukrem, nebo kakaa na pečení, jejichž deklarované složení obsahuje kakaový prášek, mléčný cukr a modifikovaný pšeničný škrob. Také u těchto kakaových směsí dochází k falšování kakaového prášku různými polysacharidy, které odhalila Státní zemědělská a potravinářská inspekce. Pod pojmem kakaový prášek se rozumí potravina získaná z pražených kakaových bobů zbavených slupek, upravených do formy prášku, obsahující nejméně 20% kakaového másla v sušině a nejvýše 9% vody [23].

V práci Trilčové a kol. (2005) byl analyzován soubor 81 vzorků kakaového prášku zakoupených především ve spotřebitelských sítích v ČR. U těchto vzorků byla změřena spektra v blízké infračervené oblasti, u těchto výrobků byl stanoven obsah tuku dle Soxhletha a vlhkost [23].

Pomocí spektrometru NIR Systems 6500 bylo změřeno infračervené spektrum v blízké oblasti, měření bylo provedeno v rozsahu 400 – 2500 nm. Každý vzorek byl změřen třikrát a z těchto hodnot byl vypočten aritmetický průměr [23].

Takto naměřená data byla statisticky vyhodnocena. Výsledkem je kalibrační křivka a korelační koeficient charakterizující lineární vztah mezi závislou proměnou a lineární kombinací sady nezávisle proměnné kalibrační řady [23].

Stanovením bylo zjištěno, že hodnoty zjištěné NIR metodou ukazují velmi spolehlivý kalibrační model. Rozsah naměřených vlhkostí se pohyboval v intervalu 2,43 – 5,18%. Tyto hodnoty vyhovují vyhlášce 76/2003 Sb., která povoluje maximálně 9,0% vlhkosti. Spektra kakaových prášků byla vyhodnocena dle Mahalanobisovy vzdálenosti H , což je statistická míra vzdálenosti spektra od průměrného spektra. Vzorek číslo 41 byl mimo vytyčený trojrozměrný trojúhelník, což mohlo být způsobeno tím, že tento vzorek obsahoval pouze 3,74% tuku. Tento vzorek se také liší ve složení a množství polysacharidů [23].

Analýza byla provedena na vzorcích kakaového prášku s různým složením, stanovení se provádí zejména u tuků a bílkovin. Tyto vzorky byly analyzovány metodou NIR v blízkosti infračervené odrazivosti. Výsledky byly zaznamenány do grafu a po následném vyhodnocení bylo zjištěno, že obsah tuku v analyzovaných vzorcích kakaového prášku je v rozmezí 8,92 – 17,20 hmotnostních %, rozsah obsahu bílkovin činí 18,40 – 21,84 hmotnostních % a u sacharidů je rozsah 34,96 – 42,96 hmotnostních %. Kafka a kol. (1982) touto laboratorní metodou zjistili, že žádný z testovaných vzorků čokolád nebyl falšován [24].

Tabulka 3: Chemické složení kakaového prášku v % [4]

Marker	Holland a kol. 2002	Osakabe a Baba, 2004	Souci a kol. 2000
Voda	3,4	4,2	5,6
Tuk	21,7	12,1	24,5
Sacharidy	nevedeno	7,6	2,2
Škrob	11,5	nevedeno	8,6
Vláknina	12,1	36,7	30,4
Popel	5,0 - 7,0	8,1	Nevedeno
Theobromin	nevedeno	2,2	2,3
Kofein	nevedeno	0,28	Nevedeno
Fosfor	0,66	nevedeno	0,656
Bílkoviny (N x 6,25)	18,5	nevedeno	19,8

3 Klasické metody průkazu autenticity potravin

Jedná se o rychlé a jednoduché testy. Tyto metody jsou určeny ke kontrole běžným způsobem falšovaných potravin. Vzhledem k jejich jednoduchosti a rychlosti si tyto testy může spotřebitel při podezření, že je jeho zakoupený výrobek falšován, provést sám. K těmto testům převážně postačí pouze kuchyňské váhy, odměrka, lupa, či vlastní smysly [4].

3.1 Mikroskopické metody

Mikroskopie je rychlá a jednoduchá metoda, u které vzorek nevyžaduje složité přípravy. Mikroskopickým rozborem se dá u medu zjistit hned několik parametrů. Podle velikosti, tvaru a charakteristických znaků pylových zrn lze určit druh medu. Můžeme tak určit botanický původ medu, lze stanovit i geografický původ medu, a zda se jedná o med jarní, letní či podzimní. Tyto skutečnosti pomohou při detekci medu díky rozdílným vlastnostem pylových zrn. Podobné je to i u marmelád a džemů. Určením charakteristických znaků použitého ovoce lze dokázat pravost a množství deklarovaného ovocného podílu. Mikroskopickým rozborem koření se dají zjistit typické parametry pro daný botanický druh. Tímto se dá zjistit kvalitní a nekvalitní zboží. Touto metodou lze odhalit také falšování potravin, např. nastavování pepře škrobem [25].

Besan, mouka z luštěniny *Cicer arietinum*, je populární složkou mnoha kulinárních pokrmů v Indii. Jelikož je po této mouce vysoká poptávka, je často falšovaná přidáním dalších luštěnin např. *Lathyrus sativus*, nebo *Pisum sativum* (hrách). Mikroskopické pozorování těchto tří luštěnin ukázalo, že se jejich semena liší svým tvarem a velikostí. Semena *Cicer arietinum* jsou delší, jejich průměrná délka je 155,6 μm a na jednom konci jsou ohnutá. *Lathyrus sativus* i *Pisum sativum* jsou kratší s průměrnou délkou 61,8 a 72 mikrometrů, s rovnými konci, s různou morfologií [26].

Věda zabývající se mikroskopickou strukturou živočišných tkání (histologie) umožňuje získání informací o obsahu tkání v masných výrobcích. Touto mikroskopickou metodou pomocí barvení připravených preparátů lze odhalit falšování masných výrobků náhradami méněcennými součástmi těl jatečných zvířat či surovinami rostlinného původu. V drobných masných výrobcích a v měkkých salámech se mohou nacházet např. kůže, chrupavky a kosti (dostávají se do výrobku s přidáním strojně odděleného masa), slinné žlázy, případně orgány jako jsou játra. Rostlinné suroviny jsou do těchto výrobků přidávány z

důvodu zvýšení vaznosti masa a podílí se na vázání tuku v díle (např. mouka, škrob, sójová bílkovina) [27].

Mikroskopické zkoumání struktury masných výrobků je velmi obtížné z těchto důvodů:

- neuložení tkání a částí orgánů tak, aby byly patrné všechny jejich součásti,
- rozřezání, rozmačkání, vaření či uzení tkání a orgánů
- malý obsah příměsí nelze zjistit z důvodu rozptýlení částic v masném výrobku [27].

Doporučený postup při mikroskopickém vyšetření:

1. Odlišení surovin živočišného a rostlinného původu

2. Rozdělení součástí živočišného původu na:

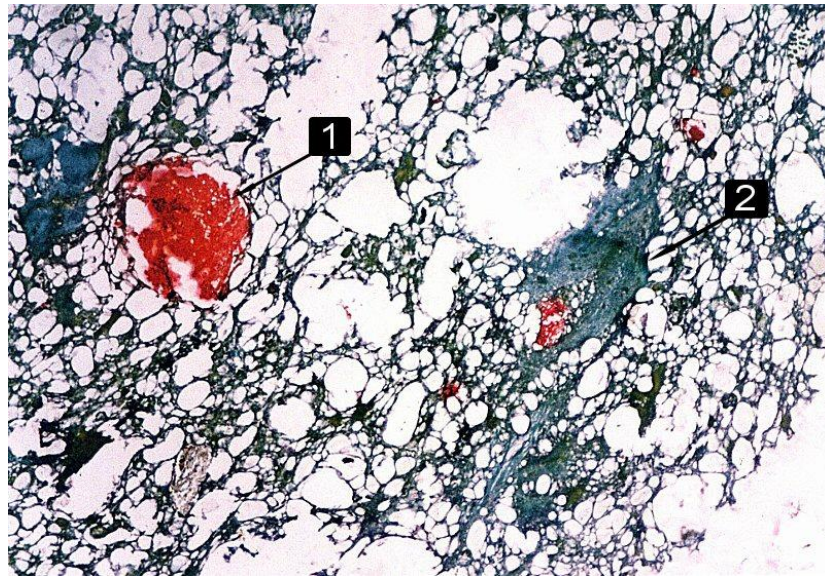
- svalovinu
- pojivo (vazivo, chrupavka, kost)
- tukovou tkáň
- orgány

3. Rozdělení rostlinného původu na:

- mouku
- škrob
- rostlinnou bílkovinu
- koření [27].

Zde se používají 2 typy barvení: přehledné barvení (Hematoxylin eozin) a cílené barvení (Calleja, PAS – Calleja, Lugol – Calleja, olejová červeň, alizarínová červeň) [27].

Ukázky mikroskopického barvení masných polotovarů a barevné odhalení příměsí:

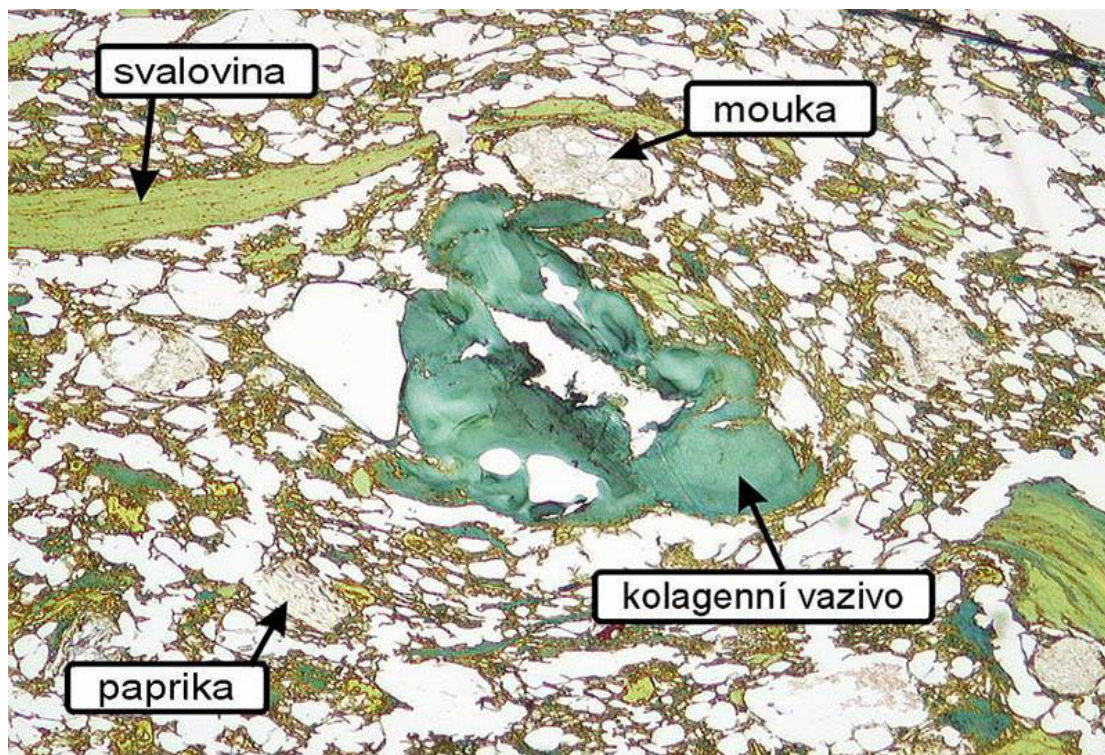


Obr. 1: Masný výrobek barvený pomocí alizarínové červeni [28].

Výsledkem tohoto barvení bylo obarvení kostní tkáně žlutočerveně a kolagenní vazivo bylo obarveno modře [28].



Obr. 2: Kostenní úlomek v masném polotovaru [29].



Obr. 3: Masný výrobek barvený dle Calley [30].

Důkazem barvení dle Calley bylo modré až zelené zbarvení kolagenního vaziva, žlutozelené až světlehnědé zbarvení svaloviny, žlutě zbarvené elastické vazivo a červeně zbarvená jádra [30].

3.2 Kjeldahlova metoda

Dusíkem dle Kjeldahla se rozumí koncentrace organického a amoniakálního dusíku ve vzorku stanovená po mineralizaci. Tato mineralizace se provádí kyselinou sírovou za přítomnosti katalyzátoru (selenu) ve speciální Kjeldahlově mineralizační baňce. Amoniakální dusík je uvolňován přidávkem zásady, destilací se převede do roztoku kyseliny borité. Poté se titruje odměrným roztokem kyseliny [31].

Stanovení bílkovin Kjeldahlovou metodou spočívá v zahřátí vzorku s kyselinou sírovou z rozkladu organického dusíku na síran amonný, destilace probíhá v digestoři, přídavek síranu amonného má za následek zvýšení bodu varu média. Katalyzátory, kterými mohou být např. oxid rtuťnatý, nebo síran měďnatý, se přidává k rychlejšímu rozkladu vzorku. Amoniak se zachytí v kyselém prostředí (např. 4% kyselina boritá), následně se stanoví titrací. Tato metoda je přesná a reprodukovatelná, jejím nedostatkem je to, že se používá koncentrovaná kyselina za vysoké teploty, časová náročnost [31].

Sarkoplazmatické a myofibrilární bílkoviny masa jsou plnohodnotné, což znamená, že obsahují všechny esenciální aminokyseliny. Kdežto stromatické bílkoviny obsažené ve vlákních pojivových tkání jsou považovány za neplnohodnotné. Obsah svalových bílkovin se převážně stanovuje odečtením obsahu kolagenu od celkového obsahu hrubých bílkovin. Nejprve se provede stanovení dusíku podle Kjeldahla, poté následuje přepočítání pomocí koeficientu 6,25 na tzv. obsah hrubých bílkovin. Po provedení srovnání obsahu bílkovin u hospodářských zvířat mají největší obsah bílkovin králíčí maso 18,1 – 23,7%, u vepřového masa je obsah bílkovin v rozmezí 17,2 – 19,9%, hovězí maso má obsah bílkovin 18,1 – 21,3 a u kuřecího masa se obsah bílkovin pohybuje mezi 17,9 – 22,2%. Jakýkoli obsah pod tyto hodnoty znamená, že maso bylo falšováno přidávkem nedeklarované suroviny [32].

3.3 Obsah vody

Po rozboru šedesáti testovaných vzorků mražených rybích filetů na obsah vody bylo zjištěno, že celá polovina takto testovaných vzorků mražených filetů neodpovídala normám. Což znamená, že deklarovaný obsah masa uvedený na obale neodpovídal skutečnosti. Inspekce také rozbořem zjistila, že výrobce přidával do filetů přídatné látky, které zvyšovaly vaznost vody (NaCl, kyselina citronová), tyto přídatné látky jsou schopné navázat až 50% vody [33].

Státní zemědělská a potravinářská inspekce provedla kontrolu prodeje burčáku. Při této kontrole bylo zjištěno, že takto prodávaný burčák neodpovídal dvěma požadavkům novely zákona č. 115/1995 Sb., o vinohradství a vinařství v platném znění, porušen byl obsah alkoholu a nedovolený přídatek vody. Bylo zkontrolováno 43 vzorků burčáku. U šesti vzorků byl zjištěn vyšší obsah alkoholu, u dalších 6 vzorků nebyly předloženy platné kompletní papíry, které umožňovaly prodej těchto burčáků, u jednoho vzorku burčáku byl prokázán přídatek vody [34].

4 Moderní metody pro odhalování falšování potravin

Potraviny jsou velmi různorodý materiál, který lze falšovat mnoha způsoby, ať jednoduchými či složitými pro detekci. Proto je třeba citlivých metod pro odhalení falšování, které jsou členěny do těchto skupin:

- fyzikálně – chemické,
- imunologické,
- molekulárně biologické [35].

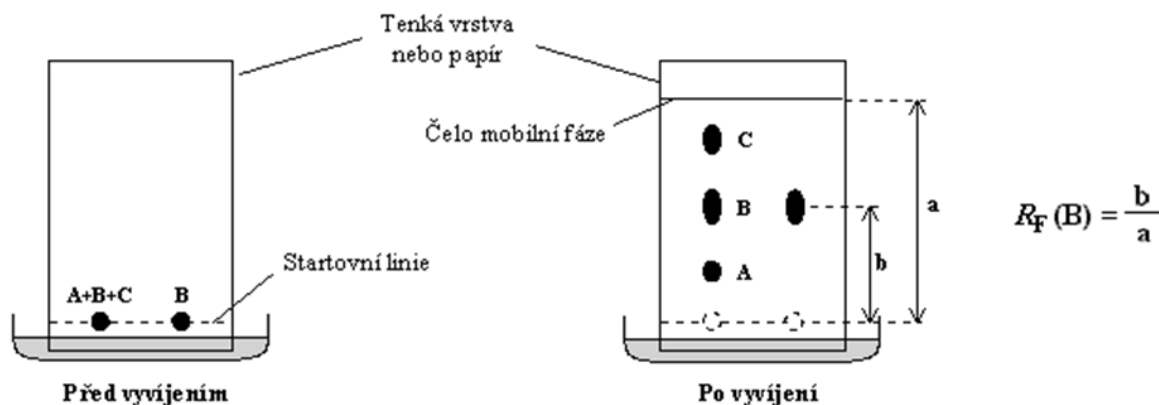
4.1 Fyzikálně – chemické metody

Chromatografie: jedná se o separační metodu, jejíž podstatou je rozdělení složek směsi vzorku mezi dvě fáze – stacionární (nepohyblivou) a mobilní fázi (pohyblivou). Fáze se od sebe liší fyzikálně – chemickými vlastnostmi (např. polaritou). Principem rozdělení složek směsi je ten, že analyty jsou poutány jak na stacionární, tak i na mobilní fázi, přičemž analyty poutány na stacionární fázi se pohybují pomaleji než ty, které jsou poutány na mobilní fázi [36].

Dělení chromatografických metod:

- 1) Adsorpční chromatografie – tato chromatografie je založena na schopnosti látek z roztoku absorbovat se na povrchu pevné fáze – absorbentu. Jedná se o chromatografii ve fázi pevná látka – kapalina (LSC). Tato chromatografie probíhá ve dvou krocích – v prvním kroku dochází k adsorpci látek na absorbent a to dle jejich afinity k absorbentu, což znamená, že látky s větší afinitou jsou zachyceny dříve; ve druhém kroku se musí takto navázané látky na sorbentu uvolnit, provádí se to buď vymýváním, nebo vytěsněním roztokem látky, která má větší afinitu k absorbentu než navázaná látka. Zvláštním případem, kterému je v adsorpční chromatografii přikládán mimořádný význam, je afinitní chromatografie [37].
- 2) Tenkovrstvá chromatografie (TLC) – jedná se o metodu pro orientační analýzu vzorku či pro preparaci jednotlivých frakcí před další analýzou. Vrstvička stacionární fáze menší než 1 mm se obvykle používá u analytického použití. Pokud je vzorek podroben preparaci, musí být vrstvička větší a to až 1 cm, aby došlo k obsáhnutí většího množství vzorku. Vyvíjecí činidlo neboli mobilní fáze je u tenkovrstvé chromatografie nanášená zespodu neboli vzestupně. Zde je hnací silou pro mobilní fázi vztlínání. Je nutné,

aby veškeré médium bylo umístěno v nádobě s nasycenými párami použitého vyvíjecího roztoku, toto opatření je potřebné k tomu, aby nedocházelo k nerovnoměrnému vztlínání mobilní fáze a následným deformacím zón dělených frakcí [36].



Obr. 4: Vyvíjecí sestava tenkovrstvé chromatografie [36].

Retardační faktor (R_F) – je dán poměrem vzdáleností středu koncentračního maxima každé zóny od startu ke vzdálenosti čela mobilní fáze od startu [36].

3. Kapalinová chromatografie (HPLC) – jedná se o klíčovou metodu, která ověřuje, zda potravina obsahuje složky, které má obsahovat, což je důležité jak z hospodářského, tak i z kvalitativního hlediska. Tato metoda dokáže rychle a citlivě oddělit velké množství organických sloučenin. Pokud je kapalinová chromatografie kombinovaná i s jinou metodou, např. hmotnostní spektroskopií (MS), rozsah jejich aplikací je zvýšen. Postupem času se přístroje zmenšily hlavně kvůli nákladům, ekologickým dopadům a na množství použitých chemikálií. Důležitými sloučeninami používanými v kapalinové chromatografii k detekci potravin jsou fenoly, antokyany a fenolické kyseliny [38].

Také byly vyvinuty různé metody k zjištění bílkovin skotu, koz a ovcí v mléce a sýru. RP-HPLC-UV je jedna z metod pro separaci a kvantifikaci κ -, α -, β - kaseinů pro odhalení falšování mléka a mléčných výrobků. Metoda RP-HPLC odhalí podíl pevných částí ze syrovátky a podmásli v sušeném mléce. Glykomakropeptidy (GMP) obsažené v sušeném odstředěném mléce odhalí metoda založená na základě SE-HPLC (size exclusion HPLC) [14, 38].

Pravost ovoce a ovocných výrobků může být detekována na různé typy sloučenin, mezi nejdůležitější patří fenolické sloučeniny, organické kyseliny, karotenoidy, aminokyseliny,

antokyany a cukry. Každé ovoce má své typické fenolické sloučeniny, a pokud se analytickými metodami zjistí obsah jiných fenolických sloučenin, než jsou uvedené na obale ovocných výrobků, zcela jistě se jedná o falšování těchto výrobků. Po podrobení vzorku džemu kdoule analýze RP – HPLC byl nalezen Arbutin, charakteristický fenol, který se přirozeně vyskytuje v hruškách. Falšované vzorky pomerančové šťávy obsahují mnohem menší množství karotenoidů než nefalšované šťávy, což znamená, že i karoteny jsou znakem detekce falšování [38].

Elektroforetické detekce proteinů: 2D elektroforéza je důležitá pro analýzu proteinů buněčných extraktech. Analýza proteinu začíná separací proteinů v extraktech 2D elektroforézou, poté následuje počítačová „image analysis“ gelu, touto metodou se ověřují změny v poloze spotů, které přísluší určitým proteinům, ke kterým může dojít na základě změn v buňce, které jsou uměle nebo přirozeně vyvolané. Lze tak porovnat mutanty, vyšlechtěné odrůdy [39].

4.2 Imunochemické metody

ELISA: z anglického *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*. Tato metoda je využívána pro snížení nákladů na sofistikované zařízení a čas věnovaný analýze. Metoda je vhodná pro analýzu velkého počtu vzorků. ELISA je imunologická metoda, která je založena na přítomnosti protilátek a antigenu, což znamená vzájemné působení antigenu s charakteristickými protilátkami *in vitro* za vzniku imunokomplexu antigen – protilátka. Tento komplex lze detekovat navázáním vhodného enzymu na jeden z imunoreaktantů. Metoda se využívá k detekci alergenů. Nevýhodou této metody je potřeba čistých monoklonálních protilátek proti každému ze sledovaných analytů. Principem této metody je navázání imobilní protilátky na pevnou fázi, poté se přidá antigen interagující s navázanými protilátkami. Poté se odstraní nenavázané složky a aplikují se enzymatické protilátky – peroxidáza, alkalická fosfatáza, β – galaktosidáza či glukózo oxidáza. Množství protilátky, které bude navázáno, závisí na množství analytu ve vzorku [40].

Protilátky, které jsou využívány při této metodě, mohou být monoklonální (MAb) i polyklonální (PAb). Tyto protilátky jsou využívány ve formě antiséra či izolované jako imunoglobulinové frakce. Při této metodě jsou používány pufrы využívány k ředění vzorků a činidel v soupravě a k jejich znovuvytvoření z lyofilizované formy. Enzym peroxidáza a její substrát se používají ke značení enzymem, pokud se ve vzorku vyskytuje chromogen 1,2 – diaminobenzen, vzniká měřitelný žluto-oranžový produkt. Enzym používaný ke zna-

čení imunokomplexů je β -D-galaktóza jejím substrátem je o-nitrofenyl- β -D-pyranosid přeměňovaný na měřitelný žlutý nitrofenolový produkt. Často se využívá také alkalická fosfatáza, její substrát p-nitrofenylfosfát přeměňovaný na nitrofenolát [9].

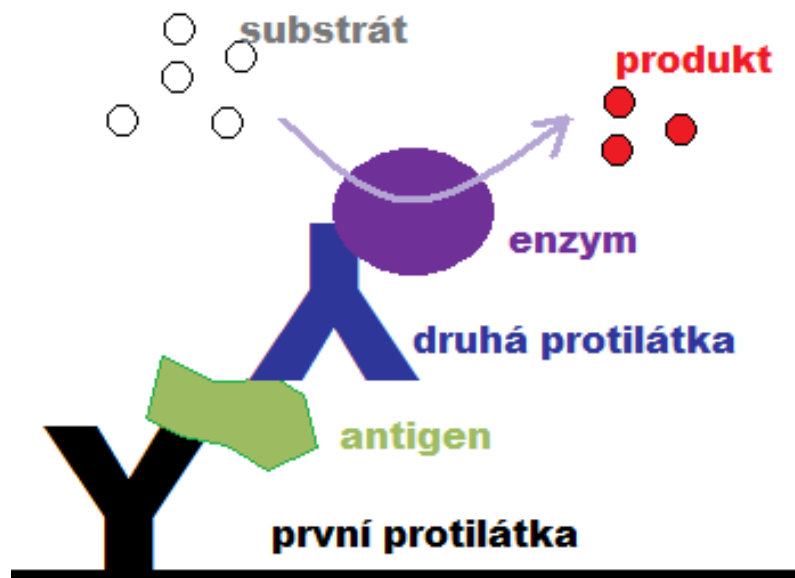
Tato metoda je schopna identifikovat různé druhy masa zvířat pomocí protilátek na základě rozdílných svalových a živočišných bílkovin. Některé společnosti Inc., Tepnel, Neogen Corporation, Eurofins a ELISA Technologies vyvinuly řadu metod k rozpoznání a identifikaci obsahu, druhu, vařeného syrového či tepelně zpracovaného masa, masných výrobků. Tato metoda je rychlá, spolehlivá a cenově dostupná. Např. „chorizo“ španělského typu je často nahrazována sójou, jelikož má masný výrobek silnou chuť, snadno maskuje pachy vzniklé falšováním [40].

Obdobně jako u masa a masných výrobků také u falšování mléka a mléčných výrobků jsou problémem různé alergie, které může konzument mít vůči mléku, které je použito při falšování a není uvedeno ve složení, mohou to být také problémy kvůli náboženskému vyznání, etické či kulturní námitky, v neposlední řadě se jedná o požadavky právních předpisů. Tato metoda je jednou z nejrozšířenějších metod pro kontrolu použitých druhů mléka díky její snadné ovladatelnosti a rychlosti. Hurley a kol. (2004, 2006) vyvinul nepřímou konkurenční ELISA metodu pro detekci nízkého procentuálního nehlášeného mléka skotu, koz, ovcí i buvolů. Ve studii od Lo'pez-Calleja a kol. (2006) byla použita nepřímá ELISA metoda pomocí MAb na zjištění β kaseinů v mléce skotu v ovčích a koziích sýrech. Existují také imunologické metody dodávané firmou Zeu Immunotec nebo Euro – Diagnostica pro ověřování mléka a sýrů [40].

Kontrola kvality citrusové šťávy má zásadní význam jak poznat, že jsou tyto produkty padělané. Falšování se může provádět buď ředěním vodou, či přidáním levnějších přísad (cukrů, kyselin a barviv). Přesnější metody jsou využívány kvůli rostoucí informovanosti o chemickém složení citrusových plodů. Podle Mersa a Shentona (1973) většina těchto metod je založena na detekci zjištění přídavků výtažků z buničiny a kůry. K rozpoznání falšování šťávy vyvinul Sass – Kiss (2000, 2002) polyklonální protilátky proti charakteristickým složkám - peptidům šťávy a kůry grepfruitu a pomeranče. Tyto protilátky jsou povoleny a použity pro zjištění falšování šťáv [40].

Nepřímou konkurenční ELISA metodou byl zjišťován obsah sójových bílkovin v masných výrobcích. Detekční limit bílkovin je 0,5% hmotnostních přidaných sójových bílkovin. Celkem bylo na sójové bílkoviny testováno 131 vzorků masných výrobků např.

salámy nebo klobásy uvedeny na trhu v České republice. Tyto bílkoviny byly zjištěny u 84% zkoumaných výrobků bez uvedení na obalu. Tento přídatek bílkovin je v České republice velmi častý a omezení jejich použití v právních předpisech se vztahuje pouze na některé druhy trvanlivých výrobků a šunek [41].



Obr. 5: Schéma sendvičové ELISA metody [42].

4.3 Molekulárně biologické metody

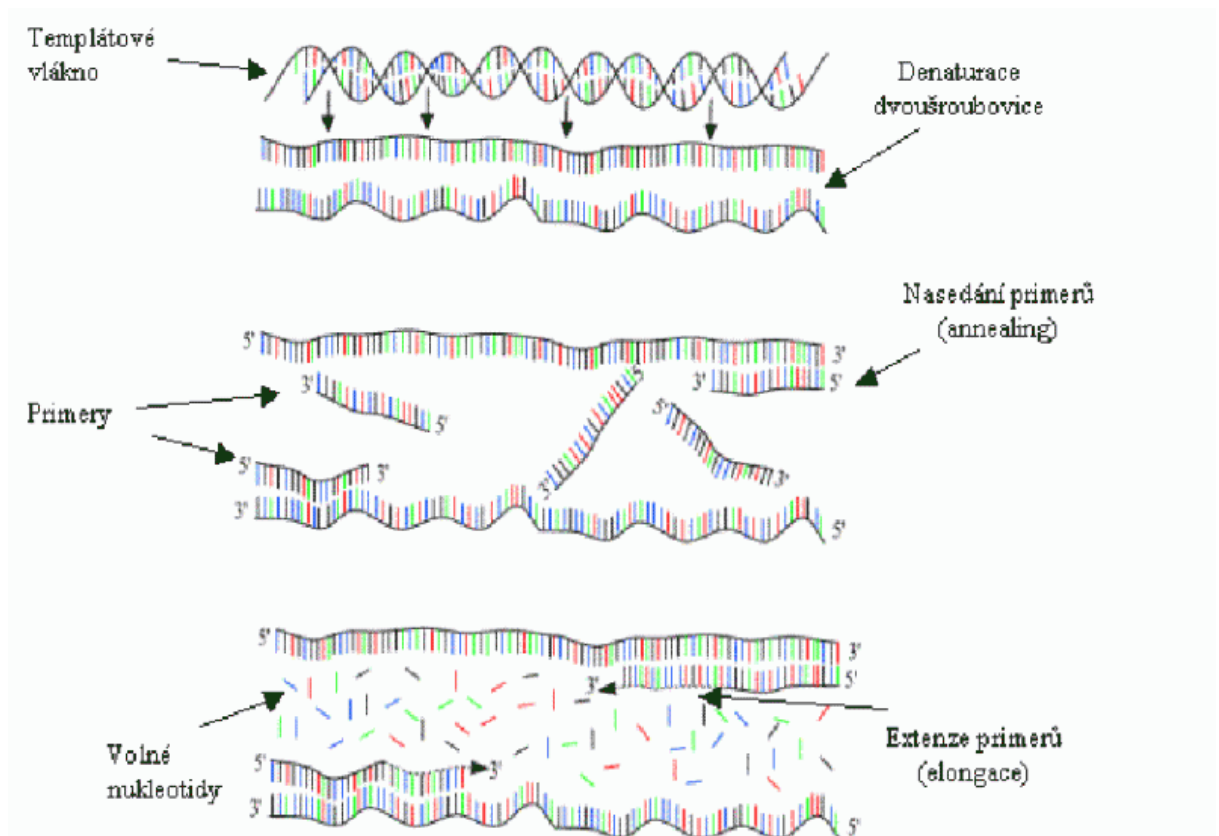
PCR – polymerázová řetězová reakce je metoda využívající aktivity termostabilních polymeráz potřebných k mnohonásobné syntéze (amplifikaci) vybraných úseků DNA. Potřebný výběr úseků se děje pomocí oligonukleotidů, které jsou sekvencí komplementární k jednomu z řetězců DNA a ohraničují tak 3' začátek amplifikace. Tato reakce probíhá ve tříkrokových cyklech – denaturace, annealing - připojení primerů, elongace – syntéza DNA. Vznikající produkt je detekován buď plynule v průběhu PCR (Real Time PCR), anebo po skončení reakce (end point PCR) [43].

Mechanismus jednotlivých kroků PCR:

- tepelná denaturace templátu – při teplotě v rozmezí 94 – 98 °C dochází k denuraci vodíkových můstků dvoušroubovice DNA a vzniku dvou jednovláknových molekul DNA,
- annealing - nasedání primerů – při teplotě 30 – 65 °C vytvoří primer vodíkové můstky s komplementární sekvencí na templátovém vlákně,

- elongace - prodlužování primerů – při teplotě 72 °C dochází k připojení volných nukleotidů a k následnému prodlužování primerů od 3' konce [44].

Tyto tři kroky jsou opakovány v 30 až 40 cyklech. V každém cyklu se množství DNA zdvojnásobí, což má za následek exponenciální amplifikaci (z každé molekuly původního templátu je tvořeno 2^n kopií, n = počtu cyklů). PCR tak umožňuje syntézu obou vláken extenzí dvou primerů, které jsou připojeny ke komplementárním řetězcům na proteinových koncích templátu [45].



Obr. 6: Polymerázová řetězová reakce [46].

Častým falšováním masných výrobků je přidavek vepřového masa (*Suis scrofa*) místo dražšího hovězího masa (*Bos taurus*). V zásadě existují dva přístupy v uplatnění PCR pro autentifikaci masa. Prvním je amplifikace sekvencí mitochondriální DNA (*cyt-b* genu) specifických pro jednotlivé druhy zvířat. Druhým je univerzální amplifikace úseku *cyt-b* genu s následnou analýzou s použitím restrikčních endonukleáz, anebo DNA sekvenace. Limitem druhého přístupu je průkaz jenom z jednodruhové vzorky – t. zn. není vhodná pro aplikaci u mělněných výrobků, kde lze očekávat přítomnost více druhů mas. Jistou možností se jeví její kombinace se sekvenací nové generace – pyrosekvenací, která umožňuje sekvenovat různorodou DNA v jednom vzorku. První metoda je použitelná jak u

směsných, tak u jednodruhových výrobků. Přítomnost vepřové DNA byla prokázána s použitím primerů specifických také k růstovým hormonálním genům prasat. Díky této citlivé metodě je možno detekovat přídavek vepřového masa v tepelně opracovaných i tepelně neopracovaných masných výrobcích i v malém množství (pod 2%). Calvo a kol. (2008) vyvinul a vyhodnotil semikvantitativní PCR techniku pro detekci vepřového mletého hovězího masa a pašтики zaměněné na repetitivní úseky DNA. Výsledky jsou validní do 0,005% obsahu vepřového masa. Wolf a kol. (2008) vynalezl techniku PCR – RFLP s použitím dvou endonukleáz, pomocí kterých je možno rozpoznat maso 25 druhů zvířat. Fajardo a kol. (2008) vyvinul metodu PCR – RFLP pro identifikaci masa z daňka evropského, skotu, ovce, koz, a srnce obecného. Další identifikaci, kterou provedli stejní autoři, byla identifikace masa z kamzíků a kozorožce pyrenejského podle specifické mitochondriální DNA [47].

Mezi falšované potraviny patří i ryby a výrobky z nich. Většina metod je založena na identifikaci pomocí mitochondriální DNA. Nejčastěji se používá i zde podobně jako u savců *cyt-b* gen, využitelné jsou ovšem i jiné genetické fragmenty. Wolf a kol. (2008) popsal jednoduchou metodu založenou na PCR – RFLP technice např. pro autentifikaci lososa, tresky, tuňáka či úhoře. Při zjišťování konkrétní ryby ve směsi je potřeba použít kombinaci primerů specifických ke každému jednotlivému druhu. K identifikaci Atlantické tresky, Evropského štikozubce obecného, tresky jednoskvrnné a tresky modré byla provedena PCR – RFLP metoda a následná velikost fragmentů byla zjištěna elektroforézou. Metoda byla použita k analýze řady produktů a k mezilaboratorní srovnávací studii, která slouží jako metodický podklad pro analýzu syrového, zmrazeného a lehce zpracovaného rybího masa [47].

Posouzení pravosti mléčných výrobků je důležité nejen z ekonomického hlediska, ale také ze zdravotního hlediska kvůli možným alergiím nebo také kvůli náboženskému vyznání. Falšování mléčných výrobků je prováděno použitím nedeklarovaného kravského mléka nebo vynecháním mléka deklarovaného druhu. Detekce mléka je důležitá zejména u sýrů, čisté ovčí nebo čisté kozí sýry. Lipkin a kol. (2008) zjistil, že somatické buňky lze použít jako zdroj DNA pro několik PCR metod, které posuzují autenticitu mléčných výrobků, dokážou od sebe rozpoznat kravské, kozí, ovčí a buvolí mléko. DNA je možno izolovat i z tepelně ošetřeného mléka, např. pasterizovaného, ultra – pasterizovaného i odstředěného mléka [47].

Na základě vhodných úseků DNA mitochondriálních a jaderných genů je mez detekce 0,01%. DNA metody využívající mitochondriální sekvenci jsou vhodné pouze pro zvířecí tkáň s nízkým obsahem nukleové kyseliny. Naopak metody založené na jaderné DNA mají větší využitelnost díky semikvantitativnímu stanovení obsahu masa zpracovaných produktů. Falešně pozitivní výsledky zjištěné PCR metodou, které jsou způsobené kontaminací, obvykle nebývají zjištěny PCR amplifikací jaderné DNA, kdy kontaminanty jsou detekovány až od minimálního množství cca 1% [48].

Velkou část potravin a krmiv tvoří geneticky modifikovaná sója a její produkty. Jelikož byly tyto geneticky modifikované výrobky schváleny v USA, Jižní Koreji a v dalších zemích, byly zapotřebí metody pro testování těchto výrobků. Specifičnost PCR bývá testována pomocí 20-ti geneticky modifikovaných výrobků kukuřice, sóji, bavlny a řepky. Mez detekce pro každou multiplexní PCR metodu je přibližně 0,05%. Geneticky modifikované organismy byly touto metodou odhaleny u tří testovaných výrobků z Jižní Koreje [49].

4.4 Kapalinová chromatografie (HPLC)

Chromatografickými analýzami dochází k oddělení složité směsi látek s velmi podobnými chemickými i fyzikálními vlastnostmi, jelikož by se jinými metodami kvantitativně a kvalitativně stanovovaly velmi složitě, pokud by to bylo vůbec možné. Chromatografickým systémem protéká mobilní fáze vedena ze zásobní láhve pomocí vysokotlakého čerpadla do dávkovače, zde je do produktu mobilní fáze nadávkován vzorek, v koloně nadále dochází k separaci jednotlivých složek. Jednotlivé složky jsou vedeny do detektoru, kde jsou analyzovány a následně odtékají do odpadu. Výsledky stanovení jsou zaznamenány do počítače v podobě chromatogramu [50].

Patří zde micelární kapalinová chromatografie (MLC), kdy při této metodě jsou tenzidy využívány nejčastěji při chromatografii iontových párů, zde umožňují separovat látky iontového charakteru v systémech s převrácenými fázemi. Separace je založena na tvorbě neutrálních iontových asociátů mezi vzorky a iontovými tenzidy, které nesou opačný náboj (nejčastěji zde patří kvartérní amoniové soli, terciární i sekundární aminy obsahující alkyly s celkovým počtem 6 – 16 atomů uhlíku pro separace iontů organických kyselin, také zde patří alkansulfonové kyseliny nebo alkylestery kyseliny sírové s 5 – 12 atomy uhlíku pro separaci organických bází). Mobilní fází se zde používá vodný roztok různých tenzidů, nejčastěji to bývá aniontový dodecylsírán sodný, zatímco méně častým tenzidem je kationtový hexadecyltrimethylamonium, nebo také neiontový polyoxyethylen(23)dodekanol.

Mezi výhody MLC patří větší šetrnost k životnímu prostředí při likvidaci odpadních mobilních fází (relativně nízké koncentrace tenzidů, které částečně nebo úplně nahrazují organické rozpouštědla). Při klasické RP HPLC nelze dosáhnout tak vysoké selektivity při separaci polárních látek jako u MLC. Micely mají za následek zpomalení fotodegradace některých léčiv, citlivých na světlo, mohou zvyšovat kvantový výtěžek fluorescence a citlivost HPLC separace s fluorimetrickou detekcí [51].

Největší výhoda MLC se projeví při analýze a stanovení látek v biologickém materiálu, většinou totiž odpadá problém s úpravou vzorků před analýzou (např. srážení bílkovin a následné oddělování) vyskytovaný při použití klasických vodně-organických mobilních fází. Vysráženou maticí vzorku se kolona neucpe z důvodu, že micely v mobilní fázi solubilizují bílkovinnou maticí biologického vzorku [51].

Jednoduchou HPLC metodou lze stanovit např. falšování jablečné šťávy. Tato metoda je založena na detekci D – malátu, získaného z racemické kyseliny jablečné přidávané jako okyselující látky. Detektor s nastavitelnou vlnovou délkou optické otáčivosti byl použit ke stanovení enantiomerního přebytku. Byla použita anexová chromatografie s elučním činidlem fosfátového pufru a UV zářením (210 nm) a následná detekce. Směrodatná odchylka kalibrační křivky enantiomerního přebytku byla 2,5%. Několik vzorků jablečné šťávy bylo analyzováno dle stanoveného postupu a zjištěné výsledky souhlasily s výsledky získanými pomocí enzymatické sady pro potravinářské potravinové analýzy [52].

5 Ochrana spotřebitele před falšováním potravin

Zákon o Státní zemědělské a potravinářské inspekci č. 146/2002 má dozor nad potravinami. Inspekce kontroluje, jestli nedochází ke klamání spotřebitele, zda výrobky, potraviny či suroviny nebo tabákové výrobky, které se uvádějí na trh jsou bezpečné, zdali nedochází k porušování práva osob [53].

Právy spotřebitelů se neustále zabývá Evropská unie. Tato práva jsou chráněna pomocí nařízení zajišťující bezpečnost potravin, dohledatelnost původu potravin a falšování. Spokojenost spotřebitelů se daří zvyšovat díky kvalitnějším a modernějším strojům k autentifikaci potravin [54].

Cíl potravinového práva je chránit zájmy spotřebitelů a poskytovat jim základ umožňující vybírat se znalostí konzumované potraviny. Cílem je i bránit podvodným praktikám, falšování potravin a jiné podvodné praktiky [54].

Tab. 4: Podíl jednotlivých komodit z hlediska falšování potravin [53]

Komodita	%
Oleje, tuky	31
Mléko, mléčné výrobky	24
Ovocné nápoje	12
Maso, masné výrobky	9
Váno	8
Koření, aromata	7
Med	5
Káva, čaj	2
Lihoviny	2
Čokoláda, cukrovinky	1

Politika bezpečnosti potravin využívá princip analýzy rizika. Tato analýza zahrnuje 3 navzájem propojené prvky:

1. Hodnocení rizik – vědecky podložený proces, při kterém se riziko podrobně popíše k jeho účelnému ovlivnění. Tento krok se skládá ještě z dalších 4 kroků: identifikace nebezpečí, popis nebezpečí, hodnocení expedice, odhad rizika.

2. Řízení rizik – jedná se o vytváření a uvádění příslušné legislativy a provádění státního dozoru nad dodržováním právních předpisů.

Komunikace o riziku – jedná se o vzájemnou výměnu informací mezi manažery rizika, hodnotiteli rizika, spotřebiteli, potravinářskými i krmivářskými podniky, akademickou obcí a jinými zainteresovanými stranami. Jedná se o důležitý a zodpovědný úkol zabývající se bezpečností potravin [8]

ZÁVĚR

Falšování potravin začalo být problémem s rozvojem výroby potravin. Výrobci potravin záměrně používají náhradu deklarované složky složkou nedeklarovanou, případně falšují pracovní postupy technologie výroby, jelikož těmito praktikami mají vysoký zisk. Bohužel jsou tyto potraviny často na první pohled k nerozeznání od nefalšovaných potravin a musí se provádět řada laboratorních kontrol.

Nejčastěji se potraviny falšují náhradou dražší suroviny za surovinu levnější bez ohledu na zdraví konzumenta. Tyto podvodné praktiky výrobců se dají zastavit tím, že si budou spotřebitelé všimnout složení potravin a informací uvedených na etiketách jednotlivých výrobků. Jenže v dnešní době spotřebitelé dávají přednost ceně výrobků před jeho kvalitou, i když to ve značné míře může vážně ohrozit jejich zdraví, což je pozitivní pro další falšování potravin.

Důležitá je také spolupráce kompetentních státních orgánů, např. Státní zemědělská a potravinářská inspekce anebo Česká obchodní inspekce a důkladná kontrola dodržování právních předpisů, norem a zákonů. Porušením těchto spisů hrozí výrobcům finanční postih. Z důvodu zajištění co největší bezpečnosti pro spotřebitele se tyto spisy neustále obnovují a zdokonalují.

Pro odhalování těchto podvodných praktik výrobců byly vyvinuty různé metody od základních, jako je mikroskopie, barvení či jen převažování hmotnosti prodávané potravin až po složitější přístrojové metody jakož je PCR metoda, ELISA, anebo i HPLC.

V případě odhalení falšované potravin se nesmí podcenit varování dalších zákazníků. O tomto zjištění je nutné včas a dokonale informovat veřejnost. Z důvodu stále nových technologií při falšování je nezbytné také školení personálu, který se zabývá odhalováním těchto podvodných praktik. Je nezbytné, aby mezi sebou spolupracovaly státní akreditované laboratoře a společnosti s nestátními společnostmi a ostatními laboratořemi, které se tímto odhalováním zabývají.

V této bakalářské práci jsou uvedeny některé příklady falšování potravin a jsou zde rovněž vysvětleny klasické i moderní metody autentifikace potravin.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- 1) Anonym. *Ochrana životního prostředí jako předpoklad výroby zdravých potravin* [cit. 2013-02-12] [online] dostupné z:
http://www.vetascb.cz/falsovani_a_prodej_menehodnotnych_potravin.doc.
- 2) Anonym. *Problematika falšování potravin*. [cit. 2013-02-12] [online] dostupné z:
<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1001%20148&docType=ART&nid=11342>.
- 3) –VS-. *Falšování potravin*. [cit. 2013-02-12] [online] dostupné z:
http://www.cojeco.cz/index.php?id_desc=398400&s_lang=2&detail=1&title=fal%9Aov%E1n%ED+potravin.
- 4) Čížková, H., *Metody a kritéria pro ověřování autenticity potravin a potravinářských surovin*, Ostrava – Přívoz, 2011, ISBN: 978-80-7418-124-5.
- 5) SZPI. *Podvody v oblasti potravin*. [cit. 2013-02-12] [online] dostupné z:
<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1018192&docType=ART&nid=11342>.
- 6) Čížková, H., Ševčík, R., Rajchl, A., Pivoňka, J., Voldřich, M., *Trendy v autenticitě potravin a v přístupech k detekci falšování*, [cit. 2013-02-25] [online] dostupné z:
http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_10_903-910.pdf.
- 7) Škopek, B., a kol.: *Praktická příručka výrobce a prodejce potravin*, Praha: Verlag Dashofer, 1998, ISBN 80-86229-05.
- 8) Ministerstvo zemědělství, *Bezpečnost potravin v ČR*, [cit. 2013-02-25] [online] dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/kategorie/bezpecnost-potravin-v-cr.aspx>.
- 9) Anonym, *Imunochemické metody*, [cit. 2013-03-26] [online] dostupné z:
http://www.biochemie.upol.cz/doc/skripta/kbc/Imunochemicke_metody.pdf.
- 10) *Ještě něco k falšování masa*, [cit. 2013-02-25] [online] dostupné z:
http://www.agris.cz/potravinarstvi/jeste-k-falsovani-masa?id_a=93489.
- 11) SZPI, *Inspekce zjistila kuřecí maso falšované přidáním až 15% vody*, [cit. 2013-02-25] [online] dostupné z:
<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1044007&docType=ART&nid=11913>.

- 12) Právo, *Za falšování masných výrobků hrozí výrobcům vysoké pokuty*, [cit. 2013-02-25] [online] dostupné z: <http://www.agris.cz/clanek/129820>.
- 13) SZPI, *Analýza prokázala falšování hovězího masa koňským minimálně 60%*, [cit. 2013-02-25] [online] dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/analyza-prokazala-falsovani-hoveziho-masa-konskym-minimalne-60.aspx>.
- 14) *Falšování mléčných výrobků*, [cit. 2013-02-28] [online] dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/falsovani-mlecnych-vyrobku.aspx>.
- 15) Kvalita potravin, *Mléko a mléčné výrobky*, [cit. 2013-02-28] [online] dostupné z: <http://kvalitapotravin.webnode.cz/mleko-a-mlecne-vyrobky/>.
- 16) Vyhláška 157/2003 Sb. *Ministerstva zemědělství, kterou se stanoví požadavky na čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování*.
- 17) *Kontrola čerstvého ovoce a zeleniny dle Nařízení Komise (EU) č. 543/2011*, [cit. 2013-02-28] [online] dostupné z: www.szpi.gov.cz/ViewFile.aspx?docid=1034031.
- 18) *Ústav konzervace potravin a technologie masa*, VŠCHT Praha [cit. 2013-02-28] [online] dostupné z: http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/navody/oborII/falsovani.pdf.
- 19) Fügel, R., Carle, R., Schieber, A., *Quality and authenticity control of fruit purées, fruit preparations and jams – a review*, 16, 10, October 2005, 433 – 441.
- 20) *Státní zemědělská a potravinářská inspekce* [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?prn=1&baf=0&nid=&doctype=ART&docid=1002631&chnum=7&inqResults=11357>.
- 21) Veselá, A., Barros, S., A., Synytsya, A., Delgadillo, I., Čopíková, J., Coimbra, A., M., *Analytica Chimica Acta*, 601, 1, October 2007, 77 – 86, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://www.sciencedirect.com.proxy.k.utb.cz/science/article/pii/S0003267007013955>.
- 22) Moros, J., Iñón, A., F., Garrigues, S., Guardia, M., *Near – infrared diffuse reflectance spectroscopy and neural networks for measuring nutritional parameters in chocolate samples*, 584, 1, 2007, 215 – 222 [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://ac.els-cdn.com.proxy.k.utb.cz/S0003267006021519/1-s2.0->

- S0003267006021519-main.pdf?_tid=5700f1a6-b19d-11e2-a094-00000aab0f01&acdnat=1367330190_f07a1281b71bad4f106534d534a5da1d
- 23) Trilčová, A., Čopíková, J., Coimbra, A., M., Barros, A., S., Křístková, H., Egert, L., Synytsya, A., *Využití infračervené spektroskopie při sledování kvality kakaového prášku*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_11_821-824.pdf
- 24) Kaffka, K., J., Norris, K., H., Kulcsár, F., Draskovits, I., *Attempts to determine fat, protein and carbohydrate content in cocoa powder by the NIR technique*, 11, 3, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: http://www.metrinir.hu/en/pdf/references/en/11B_gb.pdf
- 25) Krátká, J., Maryška, M., Voldřich, M., Kvasnička, F., Ševčík, R., Skálová, P., Dušek, M., *Praktické využití mikroskopie v potravinářství*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: http://www.fch.vutbr.cz/~zmeskal/obring/presentace_2003/04_opticke_mikroskopy.pdf.
- 26) Dattatreya, M., A., Nanjegowda, K., D., Viswanath, P., *Microscopic detection of adulteration of Bengal gram (Cicer arietinum) flour with other legume flour based on the seed testa macrosclereids*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13197-010-0168-0>
- 27) Veterinární a farmaceutická fakulta v Brně, *Mikroskopické vyšetření masných výrobků*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://vfwww.vfu.cz/vegetabilie/mgr/cv07.htm>
- 28) Veterinární a farmaceutická fakulta v Brně, *Mikroskopické vyšetření masných výrobků*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://vfwww.vfu.cz/vegetabilie/mgr/CV07/0725/0725.HTM>
- 29) Veterinární a farmaceutická fakulta v Brně, *Mikroskopické vyšetření masných výrobků*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://vfwww.vfu.cz/vegetabilie/mgr/CV07/0740/0741.jpg>
- 30) Veterinární a farmaceutická fakulta v Brně, *Mikroskopické vyšetření masných výrobků*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://vfwww.vfu.cz/vegetabilie/mgr/CV07/0721/0721.HTM>

- 31) Ministerstvo životní prostředí České republiky, *Stanovení celkového dusíku* [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://www.irz.cz/node/123>.
- 32) Česká zemědělská univerzita v Praze [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://www.agrobiologie.cz/pds/dp/bizkova.pdf>.
- 33) Anonym, *Falšování potravin: možné je všechno. I zázraky* [cit. 2013-03-08] [online] dostupné z: <http://www.vitalia.cz/clanky/falsovani-potravin-mozne-je-vsechno/>.
- 34) Státní zemědělská a potravinářská inspekce, *Kontrola správnosti označování potravin („falšování“ potravin)* [cit. 2013-03-08] [online] dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1004563&docType=ART&nid=11443>.
- 35) Anonym, *Falšování potravin – příklady, metody detekce a ochrana spotřebitele*, [cit. 2013-03-25] [online] dostupné z: https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:08FsqAKCBvgJ:www.primat.cz/vfu-fvhe/predmety/skladba-a-struktura-potravin-q10132/falsovani-potravin-m132756/download/+&hl=cs&gl=cz&pid=bl&srcid=ADGEESiQe6jqSWhDYEaUQzxR-SVPp8qao1u_oEV4jFxAATMZiC0sZ2P8ssv8pmOFIqTYzqVMd7VMgrQAghInzLB091fQTJYzQLiepf6KXaj87Xhh_RW8jwg7xA5Wa_3sICTgeh3huCxf7s&sig=AHIEtbRvrgaKEONaEmVLqZ6fcjn65mNc_Q.
- 36) Anonym, *chromatografie*, [cit. 2013-03-26] [online] dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/Chromatografie>.
- 37) Anonym, *Chromatographie*, [cit. 2013-03-26] [online] dostupné z: <http://biochemie.web.cz/x/metody/chromatografie.htm>.
- 38) Dr. Nolle, L., *Food authentication by HPLC, As published in LPI, 2004*
- 39) Definování proteomu [cit. 2013-03-08] [online] dostupné z: www.biochemie.upol.cz/doc/skripta/bam/08.ppt.
- 40) Asensio, L., González, I., García, T., Martín, R., *Determination of food authenticity by enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA)*, FOOD Control 19, 2008, 1 – 8.
- 41) Rencova, E., Tremlova, B., *ELISA for Detection of Soya Proteins in Meat Products* [cit. 2013-03-26] [online] dostupné z:

- http://apps.webofknowledge.com.proxy.k.utb.cz/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=12&SID=Y2p29GGoEa1Mh4bbOge&page=1&doc=8.
- 42) Schneiderka, P., a kol., *Kapitoly z klinické biochemie 2. vydání*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://www.wikiskripta.eu/index.php/ELISA>
- 43) Biogen Praha, *Polymerázová řetězová reakce*, [cit. 2013-03-26] [online] dostupné z: <http://www.biogen.cz/pcr-qpcr-rt-pcr-a-dntps>.
- 44) Demnerová, K., *Mikrobiologická bezpečnost potravin: současné strategie pro efektivní kontrolu* [cit. 2013-03-26] [online] dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2012_10_920-925.pdf.
- 45) Vědci pro průmysl a praxi, *CHEMPOINT*, [cit. 2013-03-26] [online] dostupné z: <http://www.chempoint.cz/vyuziti-polymerazove-retezove-reakce-pcr-pro-detekci-probiotickych-mikroorganismu>.
- 46) Zorníková, G., *Využití polymerázové řetězové reakce (PCR) pro detekci probiotických mikroorganismů*, [cit. 2013-03-02] [online] dostupné z: <http://www.chempoint.cz/vyuziti-polymerazove-retezove-reakce-pcr-pro-detekci-probiotickych-mikroorganismu>.
- 47) Mafra, I., Ferreira, O., V., L., P., M., I., Beatriz, M., Oliveira, P., P., *Food authentication by PCR – based methods*, *Eur Food Res Technol*, 2008, 649-665.
- 48) Binke, R., Spiegel, K., Schwagele, F., *Identification of animal tissue in meat products by means of PCR* [cit. 2013-04-08] [online] dostupné z: http://apps.webofknowledge.com.proxy.k.utb.cz/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=5&SID=Y2p29GGoEa1Mh4bbOge&page=1&doc=4.
- 49) Kim, JH., Jeong, D., Kim, YR., Kwon, YK., Rhee, GS., Zhang, DB., Kim, HY., *Development of a multiplex PCR method for testing six GM soybean events* [cit. 2013-04-08] [online] dostupné z: http://apps.webofknowledge.com.proxy.k.utb.cz/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=4&SID=Z2k47ddKKn8NL2bj8kG&page=1&doc=8.

- 50) RNDr. Borkovcová, I., Ph.D., *Kapalinová chromatografie (HPLC, UPLC)* [cit. 2013-04-12] [online] dostupné z: http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/studijn%C3%AD-materi%C3%A1l_HMF_1.pdf.
- 51) Jandera, P., *Micelární kamalinová chromatografie* [cit. 2013-04-18] [online] dostupné z: <http://www.hplc.cz/Teorie%5Cmlc.html>.
- 52) Yamamoto, A., Kawai, M., Miwa, T., Tsukamoto, T., Kodama, S., Hayakawa, K., *Determination of adulteration in apple juice by HPLC with novel optical rotaton dotector* [cit. 2013-04-18] [online] dostupné z: http://apps.webofknowledge.com.proxy.k.utb.cz/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=3&SID=X1LNDeO5E3o1fikFj5I&page=3&doc=24.
- 53) Voldřich, M., Čížková, H., Rajchl A., *Kvalita potravin a ochrana spotřebitele před falšovanými potravinami* [cit. 2013-04-20] [online] dostupné z: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:_W1S9NOlt44J:www.foodnet.cz/soubor.php%3Fid%3D15126%26kontrola%3D1814d95a44e6f171ae6c83c79aae24ea+&cd=2&hl=cs&ct=clnk&gl=cz.
- 54) *Vyhláška č. 110/1997 Sb. Zákon o potravinách a tabákových výrobcích.*

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CPM	Celkový počet mikroorganismů.
ČOI	Česká obchodní inspekce.
DNA	Deoxyribonukleová kyselina.
ELISA	E nzyme – L inked I mmuno S orbent A ssay.
ES	Evropské společenství.
EU	Evropská unie.
GMP	Geneticky modifikované potraviny.
GMP	Glykomakropeptid.
HPLC	Kapalinová chromatografie.
LSC	Kapalinová absorpční chromatografie.
MLC	Micelární kapalinová chromatografie.
MO	Mikroorganismy.
MS	Hmotnostní spektrofotometrie.
PCR	P olymerase C hain R eaction.
rDNA	Ribozomální deoxyribonukleová kyselina.
R _F	Retardační faktor.
RP - HPLC	Vysoce účinná kapalinová chromatografie.
SE - HPLC	sizeexclusion chromatografie.
SVS	Státní veterinární správa.
SZPI	Státní zemědělská a potravinářská inspekce.
UV	Ultrafialové záření.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Masný výrobek barvený pomocí alizarínové červeni.....	29
Obr. 2. Kostenní lomek v masném polotovaru.....	29
Obr. 3. Masný výrobek barvený dle Calley.....	30
Obr. 4 Vytvářecí sestava tenkovrstvé chromatografie.....	33
Obr. 5. Schéma sendvičové ELISA metody.....	36
Obr. 6. Polymerázová řetězová reakce.....	37

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Hodnocené vzorky kuřecích prsních řízků falšovaných vodou.....	16
Tab. 2 Fyzikální a chemické požadavky na kvalitu čokolád (%).....	24
Tab. 5: Chemické složení kakaového prášku v %.....	26
Tab. 6: Podíl jednotlivých komodit z hlediska falšování potravin.....	41

